

Title	Significance of dopamine D1 receptor signalling for steroidogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells( Abstract_要旨 )
Author(s)	Matsuo, Koji
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2018-03-26
URL	<a href="https://doi.org/10.14989/doctor.k21006">https://doi.org/10.14989/doctor.k21006</a>
Right	Final publication is available at <a href="https://doi.org/10.1038/s41598-017-15485-4">https://doi.org/10.1038/s41598-017-15485-4</a>
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	松 尾 浩 司
論文題目	Significance of dopamine D <sub>1</sub> receptor signalling for steroidogenic differentiation of human induced pluripotent stem cells (ヒト iPS 細胞からステロイド産生細胞への分化におけるドーパミンD1 受容体シグナルの重要性)		
(論文内容の要旨)			
<p>ステロイドホルモンはヒトの生存に必須のホルモンであり、アジソン病や先天性副腎皮質過形成で起こるグルココルチコイド欠乏は緊急治療を要する致死的病態として知られている。本病態における標準的治療はホルモン補充療法であるが、一生涯にわたる投薬が必要であるとともに投薬量の調整が難しく、不足しても過量になっても種々の合併症を引き起こす。近年、これら臓器の機能障害に対する解決策として再生医療への期待が高まっており、ヒト iPS 細胞を用いた内分泌細胞の再生研究も行われているが、これまでヒト iPS 細胞からのステロイド産生細胞への誘導はまだ十分には確立されていない。本研究ではヒト iPS 細胞を用いてステロイド産生細胞の分化機序を解明するとともに、その効率的な誘導法についての検討を行った。</p> <p>ステロイド産生細胞の起源である中間中胚葉は、早期から Odd-skipped related 1 (OSR1)を発現することが知られている。本研究ではまず初めに OSR1 レポーターヒト iPS 細胞を用いて OSR1 陽性中間中胚葉細胞を誘導し、フローサイトメトリーにて単離した。それら OSR1 陽性細胞において、ステロイド産生細胞への分化を誘導する小分子を同定するため、化合物ライブラリーを用いたケミカルスクリーニングを行った。OSR1 陽性細胞に各種化合物を添加してから 4 日後に、ステロイド合成における必須酵素である 3<math>\beta</math>-hydroxysteroid dehydrogenase (3<math>\beta</math>-HSD)の陽性細胞を免疫染色にてカウントしたところ、検討した 3,648 種の化合物のうち、カベルゴリンがその陽性率を上昇させることが明らかとなった(カベルゴリン: DMSO =1.59% : 0.07 ± 0.01%)。定量 PCR でも投与後の 3<math>\beta</math>-HSD 発現上昇が確認され、10-20<math>\mu</math>M の高濃度においてコントロール(DMSO)群と比較して有意に上昇することが示された。カベルゴリンはドーパミン D2 受容体の強力なアゴニストとして知られるが、他のドーパミン D2 受容体アゴニストを用いても同様の 3<math>\beta</math>-HSD 増強効果が確認できなかったことから、作用機序解明のためさらなる追加実験を行った結果、OSR1 陽性細胞においてカベルゴリンはドーパミン D1 受容体に対する低親和性アゴニストとして作用し、細胞内の cAMP 濃度を上昇させることが明らかとなった。さらに、ステロイド合成酵素の発現に重要な転写因子である steroidogenic factor 1 (SF-1)を OSR1 陽性細胞に遺伝子導入し、よりステロイド産生細胞として成熟分化させたのちにドーパミン D1 受容体アゴニストの効果を解析したところ、3<math>\beta</math>-HSD のみならず、steroidogenic acute regulatory protein、cytochrome P450(CYP) 11A1、CYP21A2、CYP11B1、CYP11B2、CYP17 の発現上昇を認めた。また SF-1 を導入した OSR1 陽性細胞では、導入前に発現が認められなかった ACTH 受容体を発現しており、これらの細胞ではドーパミン D1 受容体アゴニストは ACTH と相乗的にステロイド合成酵素の発現を増強し、またコルチゾールを含む各種ステロイドホルモンの産生を亢進させることが明らかとなった。</p> <p>これらの結果より、ドーパミン D1 受容体シグナルがヒト iPS 細胞からステロイド</p>			

産生細胞への誘導に寄与することが示された。またヒトステロイド産生細胞の発生分化過程におけるドーパミン D1 受容体シグナルの重要性が示唆され、発生における副腎髄質-皮質連関の意義についても示唆された。
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>グルココルチコイド欠乏は緊急治療を要する致死的病態であり、その治療法としてヒト iPS 細胞を用いた再生医療の開発が期待されている。本研究ではヒト iPS 細胞からのステロイド産生細胞の効率的な誘導ならびにその分化機序解明を目的に実験を行った。ステロイド産生細胞の起源である OSR1 陽性中間中胚葉細胞において、ステロイド合成における必須酵素である 3<math>\beta</math>-hydroxysteroid dehydrogenase (3<math>\beta</math>-HSD)の陽性率を増加させる化合物をケミカルスクリーニングにより検索した。検討した 3,648 種の化合物のうち、カベルゴリンが 3<math>\beta</math>-HSD 陽性率を上昇させ、その作用はドーパミン D1 受容体を介していることが明らかとなった。さらに、ステロイド合成酵素の発現に重要な転写因子である steroidogenic factor 1 (SF-1)を OSR1 陽性細胞に遺伝子導入し、ステロイド産生細胞として分化させたのちにドーパミン D1 受容体アゴニストの作用を解析したところ、D1 受容体アゴニストは 3<math>\beta</math>-HSD のみならず、steroidogenic acute regulatory protein(StAR)、cytochrome P450(CYP) 11A1、CYP21A2、CYP11B1、CYP11B2、CYP17 の発現を上昇させた。また SF-1 導入細胞では、導入前に認められなかった ACTH 受容体を発現しており、ドーパミン D1 受容体アゴニストは ACTH と相乗的に上記のステロイド合成酵素の発現を増強し、またコルチゾールを含むステロイドホルモンの産生を亢進させた。</p> <p>以上の研究はヒト iPS 細胞からステロイド産生細胞へと至る分子メカニズムの解明に貢献し、ヒト iPS 細胞からステロイド産生細胞への誘導に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 2 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>